مجله به‌نژادی نهال و بذر
جلد ۱-۳۲، شماره ۱، سال ۱۳۹۵

**مقاله کوتاه علمی**

**Scientific Short Article**

# کارایی روش‌های مختلف اخته کردن کاهو (*Lactuca sativa* L.) به منظور تولید بذر هیبرید

# Efficiency of Different Lettuce (*Lactuca sativa* L.) Emasculation Methods for Hybrid Seed Production

پیام خطیب[۱]، جمالعلی الفتی[۲] و یوسف حمیداوغلی[۳]

۱، ۲ و ۳- به ترتیب دانشجوی سابق کارشناسی ارشد، استادیار ودانشیار، گروه باغبانی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه گیلان، رشت

**تاریخ دریافت: ۱۳۹۴/۳/۷**　　**تاریخ پذیرش: ۱۳۹۴/۷/۲۳**

**خطیب، پ الفتی، ج. و حمیداوغلی، ی. ۱۳۹۵.** کارایی روش‌های مختلف اخته کردن کاهو (*Lactuca sativa* L.) به منظور تولید بذر هیبرید. **مجله به‌نژادی نهال و بذر ۱-۳۲: ۱۴۶ - ۱۴۱.**

کـاهو گیـاهی خودگشـن (در حـدود ۹۸٪) است و بسته به شرایط کشت هر بوته بین ۰/۵ تـا ۶ گرم و گاهی تا ۱۰ گـرم بـذر تولیـد مـی‌کنـد (Hervé, 2010). کلاله در زمان خارج شـدن از لولـه بسـاک‌هـا بـه گـرده‌هـای خـودی آغشـته مـی‌شـود در نتیجـه در فاصـله کوتـاهی که قدرت پذیرش پیـدا مـی‌کنـد بـا گـرده‌هـای خودی که به آن‌ها آغشته شـده بـارور مـی‌شـود (Davey *et al*., 2007). بنابراین سـاختمان گـل خودگشنی را در کاهو تشویق مـی‌کنـد. بـا ایـن حال عامل بازدارنده اصلی برای کاربرد وسیع‌تـر از هیبرید، هزینه بالای گرده افشانی دستی بـرای تولید آن‌هاسـت کـه ایـن امـر مـی‌توانـد انگیـزه به‌نژادی را در این گیاه کاهش دهد.

برای بررسی کارایی روش‌های مختلف اخته کردن باید از صفاتی که دارای غالبیت هسـتند و وراثت‌پذیری ساده‌ای دارنـد اسـتفاده کـرد. در مطالعات قبلی مشخص شده که در کـاهو رنـگ برگ قرمز نسبت به سـبز (Thompson, 1938)، شـکل بـرگ مجعـد (بریـده) نسـبت بـه صـاف (Lindqvist, 1960) و رنـگ بـذر بـالغ سـیاه نسبت به نوع سفید و زرد (Durst, 1930) غالب اسـت. اصـلاح سـبزی‌هـا در ایـران در مراحـل ابتدایی است و تجربه عملی کافی در ایـن زمینـه وجود ندارد. بر همین اساس این آزمـایش بـرای بررسی کارایی روش‌های فیزیکی و شیمیایی در

نویسنده مسئول: jamalaliolfati@gmail.com　　تلفـــن: ۰۱۳۳۶۶۹۰۲۸۱

اخته کردن کاهو برای تولید بذر هیبرید انجام شد.

این پژوهش طی دو مرحله انجام شد. در مرحله اول در اسفند ۱۳۹۱، بذر بیست رقم کاهو از منابع مختلف جمع‌آوری و برای تهیه نشاء به صورت جداگانه و خطی در گلخانه دانشگاه گیلان کاشته شدند. براساس بررسی‌های فنوتیپی، ارقامی که دارای رنگ برگ قرمز یا شکل برگ بریده یا بذر سیاه بودند به عنوان والد پدری و ارقامی که دارای رنگ برگ سبز یا شکل برگ غیر بریده یا بذر سفید/ زرد بودند به عنوان والد مادری استفاده شدند. در مرحله دوم با توجه به تعداد محدود بوته‌های هر رقم، آزمایش به دو قسمت تقسیم شد و در هر آزمایش چند روش اخته کردن روی یک ترکیب والدینی خاص اجرا شد. در تمامی روش‌ها حدود یک تا نیم ساعت قبل از طلوع آفتاب، جوانه گل‌هایی که در آن روز باز می‌شدند برای اخته کردن و گرده‌افشانی انتخاب شدند (Nagata, 1992). در آزمایش اول اخته کردن با روش‌های شستشو با آب، انبرک و ترکیب آب و انبرک به همراه شاهد (بدون اخته کردن) در قالب آزمایش فاکتوریل با پایه طرح بلوک‌های کامل تصادفی روی رقم‌های Paris Island و شیخ عبود فارس به عنوان والد مادری انجام شد. این آزمایش دارای دو عامل روش اخته کردن و ترکیب والدین تلاقی بود. گل‌های تیمار شده و شاهد با گرده رقم Aviflora 2680 به عنوان والد نر گرده‌افشانی شدند. در هر تکرار سه بوته از ارقام مادری اخته و سپس گرده‌افشانی شدند. در آزمایش دوم از محلول‌پاشی اسید جیبرلیک با سطوح ۵۰، ۱۰۰، ۲۰۰ پی پی ام و شاهد آب خالص در مراحل مختلف رشد جوانه گل برای اخته‌کردن استفاده شد (Eenink, 1977). بدین صورت که برای هر سطح سه بار به قواصل هر دو روز یک بار محلول پاشی صورت انجام شد که هر سطح دارای سه تکرار (بوته) بودند. بعد از اعمال تیمارها، یک بار سه و بار دیگر شش روز بعد از آخرین محلول پاشی دورگ‌گیری انجام شد. دو و پنج روز بعد از آخرین محلول‌پاشی گرده‌گیری و بررسی جوانه‌زنی گرده‌ها انجام شد. جوانه زنی گرده‌های بوته‌های تیمار شده با جیبرلیک اسید در تشتک‌های پتری حاوی محیط رشد گرده (۴۰٪ ساکاروز + ۱۰۰ پی‌پی‌ام اسید بوریک + ۱۰۰ پی‌پی‌ام کلسیم نیترات + آب) بررسی شد. این آزمایش که فاکتوریل در قالب طرح بلوک‌های کامل تصادفی بود دارای دو عامل غلظت و مراحل بود در این طرح از رقم TN-96-16 به عنوان والد پدری و از رقم کاهو پیچ معمولی لنگرود به عنوان والد مادری استفاده شد. حدود دو هفته پس از گرده‌افشانی بذرها جمع‌آوری شدند. بذرهای برداشت شده در دمای اتاق خشک شدند و میزان رطوبت آن‌ها به ۸-۵٪ رسید (George, 1999). برای پس‌رسی، بذرها به مدت دو ماه در دمای ۱۰ درجه سانتی‌گراد و رطوبت نسبی ۳۰٪ قرار گرفتند. بذرها را در گلخانه‌ای پلاستیکی در

شهرستان جویبار کاشته و از نظر صفات شکل و رنگ برگ بررسی شدند. در این مرحله تمام بذر گل‌هایی که بعد از اخته کردن و تلاقی مختلف به دست آمده بودند به همراه بذر والدین آن‌ها در خطوط جداگانه‌ای در قالب طرح بلوک‌های کامل تصادفی کاشته شدند. بعد از این که نتاج به مراحل ۴-۳ برگی رسیدند، گیاهچه‌هایی که حاصل دگرگشنی (هیبرید) بودند از روی رنگ برگ قرمز، شکل برگ مجعد و بذر سیاه کامل (در نسل بعد) از گیاهچه‌های خویش آمیخته شناسایی شدند و بر این اساس درصد بذر هیبرید که نشان از کارایی روش‌های اخته کردن بود محاسبه شد.

نتایج تجزیه واریانس نشان داد که روش اخته‌کردن تاثیر معنی‌داری بر درصد بذرهای هیبرید تشکیل شده داشت در حالی‌که تغییر والد گرده دهنده تاثیر معنی‌داری بر درصد بذرهای هیبرید نداشت. اثر متقابل نوع تلاقی و روش اخته‌کردن هم تاثیر معنی‌داری بر درصد بذر هیبرید نداشت. نتایج مقایسه میانگین‌ها نشان داد که اختلاف معنی‌داری بین تیمارهای اخته‌کردن وجود نداشت و اختلاف موجود بین روش‌های اخته‌کردن و شاهد بود. در هر سه روش اخته‌کردن استفاده از انبرک، شستشو و ترکیب این دو نزدیک به ۹۰ درصد بذر تشکیل شده هیبرید بودند (جدول ۱).

جدول ۱- مقایسه میانگین درصد بذرهای هیبرید تولید شده در روش‌های اخته کردن کاهو

Table 1. Mean comparison of percentage of hybrid seeds in different emasculation methods

| Emasculation method | روش اخته کردن | درصد بذر هیبرید Hybrid seed (%) |
|---|---|---|
| Forceps + Washing | انبرک + شستشو | 95.942a |
| Forceps | انبرک | 92.953a |
| Washing | شستشو | 89.003a |
| Control | شاهد | 14.625b |

میانگین‌ها با حروف مشترک فاقد اختلاف معنی‌دار در سطح احتمال ۱٪ هستند.

Means followed by similar letters are not significantly different at 1% probability level.

رایدر (Ryder, 1999) معتقد است روش شستشو اگر به درستی انجام شود حدود ۲۵ تا ۷۵٪ تلاقی ایجاد می‌کند در صورتی که در این آزمایش حدود ۸۹ درصد بذر هیبرید تولید شد. نتایج حاصل از تحقیقات ناگاتا (Nagata, 1992) نیز نشان داد که روش شستشو ۹۸٪ بذر هیبرید تولید می‌کند و روش سریع و آسانی است که خودگشنی تصادفی را حذف می‌کند. گزارش‌هی قبلی حاکی از آن بود که با استفاده از روش انبرک می‌توان تا ۱۰۰٪

دگرگرده‌افشانی ایجاد کرد (Watts, 1975)، در صورتی که در این آزمایش ۹۲/۵۹ درصد دگرگشنی ایجاد شد (جدول ۱). باقی ماندن گرده‌ها روی کلاله و سقط شدن تخمدان می‌تواند مانع بزرگی در تشکیل هیبرید در این روش باشد. ترکیب روش انبرک و شستشو که به عنوان روش جدیدی است، ۹۵/۹۴ درصد هیبرید تولید کرد. در آزمایش اول، حداکثر کارایی اخته‌کردن با جداسازی بساک و شستشوی گرده‌های احتمالی توسط روش انبرک و شستشو به دست آمد اما از آن‌جا که بین روش‌ها تفاوت قابل ملاحظه‌ای وجود نداشت، می‌توان روش شستشو را نیز به عنوان آسان‌ترین روش توصیه کرد.

غلظت‌های مختلف جیبرلیک اسید (جیبرلین) در آزمایش دوم تاثیر معنی‌داری بر درصد بذرهای هیبرید داشت مرحله کاربرد جیبرلین و اثر متقابل غلظت و مرحله کاربرد جیبرلین تاثیری بر درصد بذرهای هیبرید نداشتند، بنابراین تلاقی در مراحل ۳ روز و ۶ روز بعد از آخرین محلول‌پاشی تاثیری بر درصد بذرهای هیبرید نداشت. بیشترین درصد بذر هیبرید (حدود ۸۵ درصد) با کاربرد ۲۰۰ پی‌پی‌ام جیبرلین و بیشترین درصد گرده‌های نابارور (حدود ۸۰ درصد) نیز با کاربرد ۲۰۰ پی‌پی‌ام جیبرلین به دست آمد (جدول ۲). نتایج تجزیه واریانس و مقایسه میانگین اثر غلظت‌های مختلف جیبرلین بر درصد گرده‌های نابارور همسو با نتایج درصد بذرهای هیبرید بود و از نظر درصد گرده‌های نابارور بین سطوح مختلف کاربرد جیبرلین تفاوت معنی‌دار نبود اما به غیر از تیمار ۵۰ پی‌پی‌ام، بقیه سطوح با شاهد در سطح ۱ درصد تفاوت داشتند (جدول ۲).

جدول ۲- مقایسه میانگین درصد بذر هیبرید و درصد گرده‌های نابارور در غلظت‌های مختلف جیبرلیک اسید در کاهو

Table 2. Mean comparison of percentages of hybrid seeds and non-fertile pollens in different concentrations of gibberellic acid in lettuce

| غلظت جیبرلیک اسید<br>Gibberelic acid concentrations (ppm) | درصد بذور هیبرید<br>Hybrid seed (%) | درصد گرده‌های نابارور<br>Non-fertile (%) |
|---|---|---|
| 200 | 84.69a | 80.37a |
| 100 | 56.00b | 75.06a |
| 50 | 19.23c | 70.65ab |
| 0 | 10.31c | 49.58b |

میانگین‌ها با حروف مشترک فاقد اختلاف معنی‌دار در سطح احتمال ۱٪ هستند.

Means followed by similar letters are not significantly different at 1% probability level.

قبلاً تحقیقاتی در مورد اثر نرعقیمی جیبرلین بر گل‌های گیاهان مختلف انجام شده است. اثر

جیبرلین بر عقیم نمودن گل‌های پیاز (Meer and Bennekom, 1973)، کاهو (Eenink and Vereyken, 1978؛ Eenink, 1977)، و کلم (Meer and Dam, 1979) بررسی شده است. در آفتاب‌گردان به‌عنوان گیاه هم خانواده با کاهو، کاربرد جیبرلیک اسید به میزان ۰/۲۵ تا ۰/۵۰ میلی‌گرم در آغاز نمو جوانه، ۹۰ تا ۱۰۰ درصد نرعقیمی ایجاد کرد (Schuster, 1961). اگرچه در این آزمایش ۸۵ درصد بذر هیبرید با کاربرد سطح ۲۰۰ پی‌پی‌ام تولید شد اما توانست تا حدودی با نتایج حاصل از گیاه آفتاب‌گردان نزدیک باشد که با محلول‌پاشی رقیق‌تر توانست درصد بذر بیشتری نسبت به کاهو تولید کند.

اگرچه اثر مرحله کاربرد جیبرلین بر درصد بذرهای هیبرید و گرده‌های نابارور کاهو غیر معنی‌دار بود اما تیمارهای یکسان در مرحله اول (۳ روز و ۲ روز قبل از گرده‌افشانی/گرده‌گیری) نسبت به مرحله دوم (۶ روز و ۵ روز قبل از گرده‌افشانی/گرده‌گیری)، به طور جزئی کارایی بیشتری داشت. مرحله کاربرد، جیبرلیک اسید عامل بحرانی مهمی برای نرعقیمی کامل است و بررسی تاثیر مراحل دیگر در آزمایش‌های بعدی ضروری است. احتمالاً علت آن به خاطر کاهش بیشتر تقسیم میوز یا تاثیر بر جوانه‌زنی گرده باشد (Bennekom and Meer, 1982). در این آزمایش مشخص شد که بساک‌های نمو یافته بعضی از گل‌های نرعقیم چروکیده بودند و دانه گرده کمی داشتند که هیچ‌وقت آزاد نمی‌شدند، در موارد دیگر نیز بساک‌ها یا کاملا وجود نداشتند یا در حالت ابتدایی بودند. جوانه‌های کوچک‌تر و آن‌هایی که بعد از پاشیدن جیبرلین به وجود آمدند به گل‌های بارور کامل تبدیل شدند و درصد بذر هیبرید در آن‌ها پایین بود.

زمان و نحوه گرده‌افشانی عامل خیلی مهمی در ایجاد تلاقی‌های موفق است به طوری که همواره مشاهده شده که اگر گرده‌افشانی زودتر از موعد انجام شود آزاد نشدن و عدم جوانه‌زنی گرده را به دلیل رطوبت بالا به دنبال دارد. به طور کلی در سه روش شستشو، انبرک و ترکیب آن دو، روی تک تک گل‌ها باید فرایند اخته انجام شود که کاری زمان‌بر و طاقت‌فرساست و نیاز به مهارت فنی و کارگر، به خصوص موقعی که اندازه گل کوچک است و تعداد پرچم زیاد است دارد. باوجود اخته کردن صحیح، درصد بالایی از خود گرده‌افشانی ممکن است بعد از تلاقی روی دهد. اگر روش‌ها با دقت انجام نشوند احتمال سقط جنین یا تخمدان بالاست. اما در روش جیبرلین می‌توان به صورت گسترده‌ای بوته‌ها را اخته کرد هر چند انجام این کار هزینه بالائی دارد.

**واژه‌های کلیدی:** کاهو، اخته کردن، جیبرلین، هیبرید، تلاقی، گرده‌افشانی دستی.

**References**

**Bennekom, J. L. van., and Meer, Q. P. van der 1982.** Gibberellins as gametocides for the common onion (*Allium cepa* L.). III. GA7+4 and pollen viability. Euphytica 31: 503-506.

**Davey, M. R., Anthony, P., van Hooff, P., Power, J. B., and Lowe, K. C. 2007.** Biotechnology in Agriculture and Forestry. Transgenic Crops. Springer-Verlag, Berlin, Heidelberg, Germany.

**Durst, C. E. 1930.** Inheritance in lettuce. Illinois Agricultural Experimental Station, Bulletin No. 356. Illinois, USA.

**Eenink, A. H. 1977.** Induction of male sterility in lettuce (*Lactuca sativa* L.) by application of gibberellic acid: a technical note. Euphytica 26: 31-32.

**Eenink, A. H., and Vereyken, A. L. J. 1978.** Induction of male sterility in lettuce *Lactuca sativa* L. with GA3; influence of temperature and $GA_3$ concentration. Netherlands Journal of Agricultural Science 6 (1): 45-50.

**George, R. A .T. 1999.** Vegetable Seed Production. CAB International, Wallingford, UK.

**Hervé, M. 2010.** Production of hybrid *Lactuca sativa* seeds. Retrieved March 29, 2014, google patents, from http://www.google.com/patents/US20100306882.

**Lindqvist, K.** 1960. Inheritance studies in lettuce. Inheritance of lobed leaf form in Lactuca. Hilleshog Sugar Beet breeding Institute, Landskrona, Sweden.

**Meer, Q. P. van der, and Bennekom, J. L. van. 1973.** Gibberellic acid as a gametocide for the common onion (*Allium cepa* L.). Euphytica 22: 239-243.

**Meer, Q. P. van der, and Dam, R. van. 1979.** Gibberellic acid as a gametocide for cole crops. Euphytica 28: 717-722.

**Nagata, R. T. 1992.** Clip and wash method of emasculation for lettuce. HortScience 27(8): 907-908.

**Ryder, E. J. 1999.** Lettuce, Endive and Chicory. CABI Publishing, Walligford, UK.

**Schuster, W. 1961.** Untersuchungen uber kunstlich induzierte pollen sterillitiat bie sonnenblumen (*Helianthus annuus* L.). Zeitschrift fur Pflanzenzucht 46: 389-404.

**Thompson, R. C. 1938.** Genetic relations of some color factors in lettuce. U. S. Department of Agriculture, Technical Bulletin No. 620, Washington D. C., USA.

**Watts, L. E.** 1975. The response of various breeding lines of lettuce to *Beet western yellows virus*. Annals of Applied Biology 81: 393-398.